

THESIS

MUNICH

1966

3

UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE DER PHLORIZIN-WIRKUNG
AUF DIE RESORPTION DER GLUCOSE AUS DEM
DÜNNDARM DER RATTE

Peter Selgrad

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154017_0160

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Professor Dr. W. SEITZ

UNTERSUCHUNGEN ZUR FRAGE DER PHLORIZIN-WIRKUNG
AUF DIE RESORPTION DER GLUCOSE AUS DEM DÜNNDAARM DER RATTE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Peter Selgrad
aus Amberg

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent:	Priv.-Doz. Dr. H. MEHNERT
Korreferent:	Prof. Dr. W. SEITZ
Dekan:	Prof. Dr. M. KIESE

Tag der mündlichen Prüfung: 13. 12. 1966

Meinen lieben Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	7
II. MATERIAL UND METHODE	9
1. Versuchsanordnung	9
2. Chemische Nachweise	10
III. ERGEBNISSE	11
IV. DISKUSSION	18
V. ZUSAMMENFASSUNG	21
VI. LITERATURVERZEICHNIS	23

I. EINLEITUNG

In den letzten Jahren und Jahrzehnten wurden zahlreiche Untersuchungen zum Mechanismus der aktiven Resorption des Zuckers, insbesondere der aktiven Resorption der Glucose, durchgeführt (1, 2, 3). Die Glucose soll nach diesen Untersuchungen über einen spezifischen Carrier-Mechanismus aus dem Dünndarm über das Darmepithel in das Blut übergehen. Bei dem Carrier-Mechanismus handelt es sich um die Kopplung zwischen einem energieliefernden Prozeß und dem Transportvorgang. Da diese Kopplung enzymatischer Natur ist, muß sich für den Transport der aktiv transportierten Substanzen eine sogenannte Sättigungskinetik nachweisen lassen.

Charakteristisch für die Sättigungskinetik ist die sogenannte Substratsättigung: das heißt, von einem bestimmten Punkt ab führt Zusatz von weiterem Substrat zu keiner Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeit mehr. Die Transportvorgänge bzw. die enzymatischen Reaktionen sind an diesem Punkt voll gesättigt.

Ein weiteres Charakteristikum der Michaelis-Menten-Kinetik ist die sogenannte kompetitive Hemmung. Unter kompetitiver Hemmung versteht man eine Verdrängungshemmung. Das heißt, die aktiven Stellen eines Enzyms, beziehungsweise in diesem Falle des Transportsystems, werden durch andere Substanzen besetzt.

Da es sich auch hierbei um einen reversiblen Vorgang handelt, ist die Bindung zwischen Carrier und kompetitivem Hemmstoff reversibel. Das heißt, Zusatz von hoher Menge an Substrat führt zu einer Aufhebung der Hemmung, die Maximalgeschwindigkeit der Reaktion bleibt gleich, während k_m vergrößert wird. Für die Wirkung von Phlorizin auf den Glucosetransport aus dem Dünndarm an sich wurde nun vielfach diese sogenannte Sättigungskinetik gefordert und man nimmt an, daß es sich eben um aktive Transportvorgänge handelt. Phlorizin wird vielfach gerade als Hemmer des aktiven Transportvorganges bezeichnet.

Besonders Nissim (1), aber auch Alvarado und Crane (13, 14) haben an diesem Modell mitgewirkt. Nissim arbeitete, *in vivo*, während Alvarado und Crane *in vitro* arbeiteten. Aber auch Nissim hat keine eingehenderen Untersuchungen über den Mechanismus der Phlorizin-Wirkung durchgeführt. Durch die Arbeitsgruppe Mehnert und Förster (4, 5) war in den letzten Jahren die Resorption einer großen Zahl von Substanzen aus dem Dünndarm der Ratte mit einer *in vivo* Methode geprüft worden. Förster und Mehnert haben gerade darauf hingewiesen, daß für den Vorgang der Resorption weniger das Natriumchlorid verantwortlich sei, wie von Crane gefordert worden war, sondern daß die gleiche Wirkung, die Natriumchlorid hat, auch von anderen Substanzen, nämlich zum Beispiel von Xylit und von Magnesiumsulfat ausgefüllt wird. Das heißt, die Resorption wird besonders durch irgendeine Form von osmotischem Druck beeinflusst.

Aus dem gleichen Arbeitskreis wurde von Erdlenbruch (6) die Wirkung von Jodessigsäure und von Dinitrophenol auf die Resorption von Glucose untersucht. Dieser Autor stellte keinerlei Wirkung bei Dinitrophenol fest. Die Tiere verstarben, ehe sich eine Wirkung von Dinitrophenol nachweisen ließ. Das heißt, eine Erhöhung der Konzentration konnte nicht mehr durchgeführt werden. Jodessigsäure wiederum bewirkt eine Hemmung nur in dem unteren Konzentrationsbereich. Das würde an sich sehr gut zu den Ansichten von Förster und Mehnert passen, denn diese Autoren hatten angenommen, daß die Substratsättigung für Glucose, beziehungsweise für den aktiven Transportvorgang, der bei der Resorption der Glucose beteiligt ist, bereits bei einer Konzentration von 1 % Glucose im Dünndarm der Ratte vorhanden ist. Bei höheren Glucosekonzentrationen war Jodessigsäure ebenfalls völlig wirkungslos. Aufgabe der vorliegenden Arbeit sollte es nun sein, für die Wirkung von Phlorizin eine Konzentrationsabhängigkeit festzustellen. Daneben sollte untersucht werden, in wie weit Natriumchloridzusatz zu den Perfusionslösungen die Ergebnisse modifizieren könnte.

II. MATERIAL UND METHODE

1. Versuchsanordnung

Wir verwendeten zu den Versuchen Albino-Ratten männlichen Geschlechts von 170-210 g Gewicht, die mit einer Standardkost gefüttert worden waren, die aus Brot, Salatblättern und Fischmehl bestand. 24 Stunden vor Versuchsbeginn erhielten die Ratten keine Nahrung mehr. Die Ratten wurden in Einzelkäfige gesetzt, deren Bodengitter eine Maschenweite von 1 cm hatten, um zu verhindern, daß die Tiere ihren eigenen Kot frassen. Es wurde dadurch ein weitgehend kotfreier Dünndarm zu den Hauptversuchen erhalten.

Die Ratten wurden zu Versuchsbeginn mit 100 mg Urethan pro 100 g Körpergewicht betäubt. Das Urethan wurde subcutan injiziert. Die Narkose wurde eine halbe Stunde später, nachdem die Ratten gewogen worden waren, durch einen leichten Ätherrausch eingeleitet.

Das Abdomen der narkotisierten Ratte wurde mit einem Medianschnitt von etwa 5 cm Länge entlang der linea alba eröffnet. Durch den Magen wurde dann eine Knopfkanüle ins Duodenum eingeführt und mit Zwirn am Pylorus befestigt. Im unteren Ileum wurde ein 10 cm langer Kunststoffschlauch von 0,5 cm Durchmesser etwa 5 cm vom Coecum entfernt in den Darm eingeführt und dort eingebunden. Die Perfusionslösung wurde durch einen Kunststoffschlauch von 1,5 m Länge über die Knopfkanüle durch den Darm geleitet und an dem unteren Schlauch aufgefangen und gemessen. Die so erhaltene Menge des Perfusates gab einen ungefähren Anhalt für die Flüssigkeitsveränderungen im Darm der Ratte während der Versuche. Mit Hilfe einer elektrischen Rollenpumpe wurde der Darm zu Versuchsbeginn möglichst schnell gefüllt, dann wurde die Pumpe so eingestellt, daß die Flüssigkeit etwa mit gleichbleibender Geschwindigkeit durch den Darm strömte und so die Konzentration der Lösungen im Darmlumen konstant bleiben konnte. Um die Perfusionslösungen der Körpertemperatur der Versuchstiere anzupassen, wurde der Kunststoffschlauch durch ein Wasserbad geleitet, das durch einen Thermostaten auf einer Temperatur von 60 Grad C gehalten wurde. Auf der kurzen Strecke zwischen Wasserbad und Darm erfolgt durch die Luft eine Abkühlung der Lösungen bis etwa auf Körpertemperatur.

Am Ende der Versuche wurde der Darm mit Luft durchgeblasen, um möglichst die gesamte im Darmlumen zurückgebliebene Flüssigkeit mit zu erfassen.

Es wurde die Resorptionshemmung durch Phlorizin auf die Resorption von Glucoselösungen während 60 Min. untersucht. Dabei wurden 0,1 %ige, 0,5 %ige, 1 %ige, 2,5 %ige und 5 %ige Glucoselösungen gegeben. Einem Teil der Perfusionslösungen wurde 0,9 %ige NaCl-Lösung zugesetzt. Alle Perfusionslösungen enthielten außerdem 1,6 % Kollidon.

2. Chemische Nachweise

a) Nachweis des Kollidon, modifiziert nach Schubert (7)

2 ml Perfusat wurden mit aqua dest. auf 25 ml aufgefüllt. Davon wurden 3 ml abpipettiert, mit 1 ml 10%iger Kupfersulfatlösung versetzt und im siedenden Wasserbad 2 Min. erhitzt. Das Kupfersulfat wurde darauf mit 1 ml 10,61%iger Kaliumferrocyanidlösung ausgefällt. Danach wurde abgekühlt, gut durchgeschüttelt und zentrifugiert. Vom Überstand wurde 1 ml mit 5 ml Jod-Jodkalilösung (0,08 mol. KJ; 0,01 mol. Jod-Sublimat) versetzt, wobei es bei Vorhandensein von Kollidon zu einer Farbvertiefung kommt, die durch Bildung eines Kollidonjodkomplexes entsteht. Dieser Komplex wurde mit 2,5 ml 20%iger Salzsäure ausgefällt, abzentrifugiert und der Überstand abgegossen. Der Niederschlag wurde mit 25 ml Methylalkohol aufgenommen und die Farbintensität am Photometer Eppendorf bei 436 m μ gemessen. Es mußte sofort abgelesen werden, da der Kollidonjodkomplex beim Stehen eine Farbintensitätsminderung erfährt.

Nach Aufnahme einer Extinktionskurve am Spektrophotometer entschied man sich für diese Wellenlänge, obwohl sie ziemlich am Rande des bei 358 m μ befindlichen Maximums liegt. Sie zeigt aber den Vorteil eines größeren Meßbereichs.

b) Nachweis der Glucose

Der Nachweis erfolgte nach der von Keilin und Hartree (8) entwickelten und von Hugget und Nixon (9) verbesserten Methode (Boehringertestverfahren). Er beruht auf der von der Glucoseoxydase katalysierten Oxydation der Glucose zu Gluconsäure, wobei Wasserstoffperoxyd entsteht. In Anwesenheit der Peroxydase oxydiert Peroxyd o-Dianisidin-Hydrochlorid zu einem rotbraunen Farbstoff. Die Konzentration des Farbstoffes, der bei 436 m μ kolorimetriert wird, ist ein Maß für die Konzentration der Glucose. Es wurden 0,5 ml enteiweißte Flüssigkeit auf 10 ml des gelieferten Glucose-Reagens verwendet (Boehringer).

III. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse sind aus folgenden Tabellen und Abbildungen zu ersehen.

Für die Tabellen und die Abbildungen gelten die nachstehenden Abkürzungen.

$\bar{x}$	=	Mittelwert
s	=	Standardabweichung
$\frac{s}{x}$	=	Streuung
$2 \frac{s}{x}$	=	Signifikanz
n	=	Anzahl der bei den einzelnen Versuchsreihen verwendeten Ratten

TABELLE I

Die Wirkung von 0,1 % Phlorizin auf die Glucoseresorption aus dem perfundierten Dünndarm der Ratte (Perfusionslösung 60 ml; Perfusionsdauer 60 Min.)

	n	Durchschnittl. Rattengew. i. g	Resorption in % (mg)	$\frac{s}{w}$ % (mg)	Wasserwert in ml	$\frac{s}{w}$	Konzentration
Glucose 0,1%	12	233,33	1,29(0,77)	0,51(0,306)	48,20	1,36	1237,50
Glucose 0,5%	11	211,0	3,65(10,95)	0,69(2,07)	44,30	1,42	1316,70
Glucose 1,0%	12	187,08	3,40(20,40)	0,80(4,80)	47,45	0,53	1239,25
Glucose 2,5%	6	198,30	5,50(82,50)	0,56(8,40)	50,08	0,77	1137,50
Glucose 5,0%	12	204,2	71,11(213,30)	0,69(20,70)	60,90	0,53	907,70
Glucose 10,0% (30 ml)	9	203,33	13,61(408,30)	11,60(348,0)	40,38	4,39	551,11

TABELLE II

Die Wirkung von 0,01 % Phlorizin auf die Glucoseresorption aus dem perfundierten Dünndarm der Ratte (Perfusionslösung 60 ml; Perfusionsdauer 60 Min.)

	n	Durchschnittl. Ratten- gew. i. g	Resorption in % (mg)	$\frac{s}{w}$ % (mg)	Wasser- wert in ml	$\frac{s}{w}$	Konzentration
Glucose 0,1%	6	212,50	5,38 (3,22)	2,1 (1,26)	48,53	2,4	1167,83
Glucose 0,5%	12	269,58	5,708(17,12)	1,37(4,11)	44,48	1,97	1298,75
Glucose 1,0%	12	215,83	4,79 (28,74)	0,71(4,26)	44,38	1,39	1300,66
Glucose 2,5%	11	217,72	6,40 (96,00)	2,51(37,65)	47,19	1,29	1190,09
Glucose 5,0%	12	184,58	8,456(253,68)	0,75(22,50)	62,20	0,485	884,00

TABELLE III

Die Wirkung von 0,1 % Phlorizin auf die Glucoseresorption bei NaCl-Zusatz aus dem perfundierten Dünndarm der Ratte (Perfusionslösung 60 ml; Perfusionsdauer 60 Min.)

	n	Durchschnittl. Ratten- gew. i. g	Resorption in % (mg)	$\frac{s}{w}$ % (mg)	Wasser- wert in ml	$\frac{s}{w}$	Konzentration
Glucose 0,1%	18	216,90	13,31(7,99)	1,60(0,96)	60,38	0,45	861,90
Glucose 0,5%	11	199,50	4,44(13,32)	0,83(2,49)	61,90	0,41	926,60
Glucose 1,0%	11	221,40	10,85(65,10)	1,06(6,36)	60,70	0,94	871,00
Glucose 2,5%	12	194,16	8,96(134,40)	1,26(18,90)	65,91	0,99	829,50
Glucose 5,0%	12	174,59	8,08(242,40)	0,66(19,80)	70,00	0,92	788,00

TABELLE IV

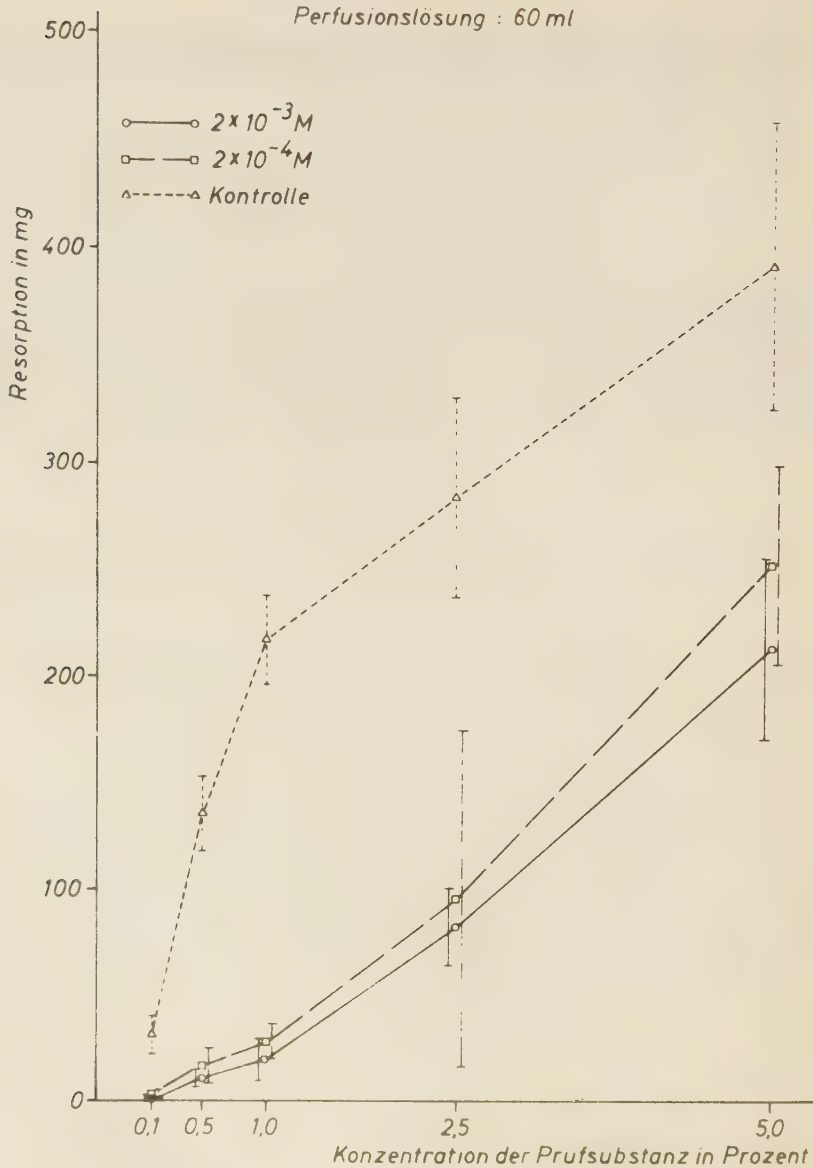
Die Wirkung von 0,01 % Phlorizin auf die Glucoseresorption bei NaCl-Zusatz aus dem perfundierten Dünndarm der Ratte (Perfusionslösung 60 ml; Perfusionsdauer 60 Min.)

	n	Durch- schnittl. Resorption Ratten- in % (mg) gew. i. g	$\frac{s}{w}\%$ (mg)	Wasser- wert $\frac{s}{w}$ in ml	Konzen- tration
Glucose 0,1%	12	203,3 24,21(14,52)	1,47(0,88)	59,22 0,55	769,25
Glucose 0,5%	12	256,6 22,55(67,65)	1,59(4,77)	59,06 0,39	815,75
Glucose 1,0%	13	180,8 12,92(77,52)	1,82(10,92)	63,26 0,47	826,15
Glucose 2,5%	11	189,5 9,25(138,75)	0,88(13,20)	66,37 0,74	820,20
Glucose 5,0%	18	203,0 7,37(220,1)	0,72(21,60)	68,10 0,78	817,60

Der Einfluss von Phlorizin ($2 \times 10^{-3} M$ und von $2 \times 10^{-4} M$) auf die Glucoseresorption.

Perfusionsdauer : 60 Min.

Perfusionslösung : 60 ml



$n(\circ) = 12 \quad 11 \quad 12$

6 12

$n(\square) = 6 \quad 12 \quad 12$

11 12

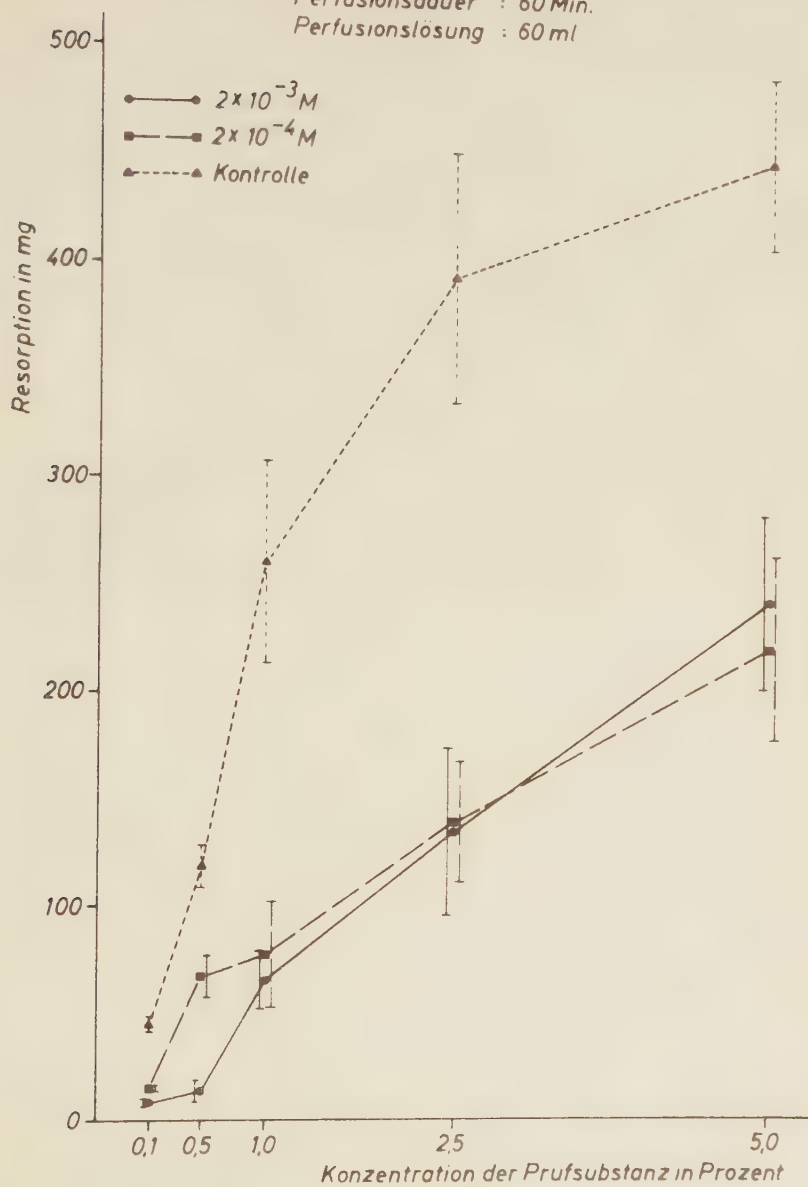
$n(\triangle) = 6 \quad 11 \quad 20$

7 13

Der Einfluss von Phlorizin ($2 \times 10^{-3} M$ und von $2 \times 10^{-4} M$) auf die Glucoseresorption. Zusatz von 0,9% Natriumchlorid.

Perfusionsdauer : 60 Min.

Perfusionslösung : 60 ml



$n(\circ) =$	18	11	11	12	12
$n(\square) =$	12	12	13	11	18
$n(\triangle) =$	7	9	6	12	7

Aus Abbildung 1 und Abbildung 2 ist zu ersehen, daß die Glucoseresorption ohne Zusatz von Phlorizin einer gewissen Sättigungskinetik gehorcht. Förster und Mehner (4, 5) deuten diese Kurven dahingehend, daß es sich um die Überlagerung eines passiven Diffusionsvorganges mit dem aktiven Transportvorgang handelt. Der passive Diffusionsvorgang läßt sich nicht sättigen, während der aktive Transport bei etwa 1 % gesättigt zu sein scheint. Es ist nicht Aufgabe dieser Arbeit, die Differenzen zwischen dem Transportvorgang unter Natriumchloridzusatz zu untersuchen. Aber es läßt sich doch ersehen, daß die Sättigung des aktiven Transportvorgangs bei Zusatz von Natriumchlorid nicht so früh erfolgt als ohne Natriumchloridzusatz. Untersucht wurden zwei Phlorizin Konzentrationen, nämlich 2×10^{-3} M und 2×10^{-4} M Phlorizinzusatz. Aus den Abbildungen und den Tabellen ist zu ersehen, daß die Hemmung der Glucoseresorption im Prozent des Ausgangswertes in den unteren Glucosekonzentrationsbereichen am höchsten ist. In den höheren Bereichen ist die Hemmung weit weniger ausgeprägt. So wird etwa bei 1% Glucose die Glucoseresorption durch 2×10^{-3} M Phlorizinlösung von 200 mg auf 20,40 mg gehemmt, das heißt, die Hemmung beträgt etwa 90 %. Ähnlich sieht es bei niedrigeren Glucosekonzentrationen aus. Bei der Glucosekonzentration von 5 % im Perfusionsmedium beträgt die Resorption dagegen noch 213 mg, das heißt, etwas über 50% der Glucoseresorption ohne Phlorizinzusatz. Außerdem läßt sich bereits bei der Kurve ohne NaCl-Zusatz ersehen, daß weiterer Phlorizinzusatz über 2×10^{-4} M hinaus die Glucoseresorption vor allen Dingen wiederum in den unteren Bereichen weiter hemmt (siehe Tabelle 1 - 4).

Der Rückgang von 3 mg auf 0,77 mg, also fast auf 5 % bei 0,1 % Glucose oder von 17 mg auf 11 mg bei 0,5 % Glucose ist jedenfalls wesentlich stärker zu bewerten als der Rückgang von 96 mg auf 82 mg bei 2,5% Glucose und von 253 mg auf 213 mg bei 5% Glucose. Zusatz von 0,9% NaCl führt zu einem etwas anderen Bild. Durch 2×10^{-4} M Phlorizin wird die Glucoseresorption bei Anwesenheit von NaCl wesentlich weniger gehemmt. Lediglich in den hohen Konzentrationen, nämlich bei 2,5 % Glucose lassen sich weniger Unterschiede zu den Vergleichstieren ohne NaCl finden (siehe Tabelle 1 - 4). Die Glucoseresorption bei 2×10^{-4} M Phlorizin beträgt ohne NaCl-Zusatz bei 2,5% Glucose 96 mg und mit NaCl-Zusatz 139 mg, bei 5 % Glucose beträgt sie ohne NaCl-Zusatz 254 mg und mit NaCl-Zusatz 220 mg, das heißt, bei 5 % Glucose sind überhaupt keine Differenzen mehr zu erkennen und bei 2,5 % Glucose sind die Differenzen nicht so sehr groß (Tabelle 3 und 4). Ganz wesentlich anders sieht es dagegen bei 1% Glucose aus. Hier beträgt die Resorption ohne NaCl-Zusatz nur noch 29 mg, während mit NaCl-Zusatz 77,5 mg resorbiert werden. Bei 0,5 % Glucose wird ohne NaCl-Zusatz 17 mg resorbiert und mit NaCl-Zusatz 68 mg. Bei 0,1% Glucose ist dagegen der Unterschied wieder etwas schwächer, hier wird ohne NaCl-Zusatz 3 mg, mit NaCl-Zusatz 14,5 mg resorbiert. Betrachten wir nun die Ergebnisse der Phlorizin-Hemmung mit NaCl-Zusatz in sich, so finden wir, daß weiterer Zusatz von Phlorizin bei einer Konzentration von 2×10^{-4} M Phlorizin die Resorption wiederum nur in den unteren Bereichen der Glucosekonzentrationen beeinflusst (Tabelle 3

und 4). Bei 2,5% Glucose und bei 5% Glucose ist überhaupt keine weitere Hemmung mehr zu erkennen, bei 1% Glucose ist die Hemmung unerheblich und nur bei 0,5% und 0,1% Glucose ist noch eine Zunahme der Resorptionshemmung festzustellen. Wir können also folgende Gemeinsamkeiten für die Hemmung der Glucoseresorption durch Phlorizin mit und ohne NaCl-Zusatz feststellen:

In beiden Fällen erfolgt die maximale Hemmung bei niedrigen Glucosekonzentrationen im Perfusionsmedium. Bei Zusatz von 0,9% NaCl ist die Zunahme der Hemmwirkung zwischen 2×10^{-4} M Phlorizin im Perfusionsmedium und 2×10^{-3} M Phlorizin im Perfusionsmedium relativ gering im Verhältnis zu den Untersuchungen, bei denen kein Kochsalz zugesetzt worden war. Bei den Glucosekonzentrationen 2,5% und 5% führt NaCl-Zusatz zu keiner Veränderung der Glucoseresorption, beziehungsweise der Hemmung der Glucoseresorption durch Phlorizin.

IV. DISKUSSION

Phlorizin hat nach den neueren Ansichten zwei Angriffspunkte:

Die wichtigere Wirkung bei niedrigeren Phlorizinkonzentrationen ist die Verhinderung des Glucoseeintritts in die Zellen. Bei höherer und hohen Phlorizinkonzentrationen erfolgt zusätzlich noch eine Hemmung des oxydativen Stoffwechsels (10, 11, 12). Von Alvarado und Crane (13, 14) wurde bereits bei sehr niedrigen Phlorizinkonzentrationen eine Hemmung des aktiven Stoffwechseltransportes beobachtet, bei Konzentrationen, die keinerlei Wirkung auf den Sauerstoffverbrauch und auf den oxydativen Stoffwechsel hatten. Diese Autoren schließen aus ihren in vitro Untersuchungen, daß es sich bei der Phlorizin-Wirkung um eine kompetitive Hemmung des aktiven Transports durch Phlorizin handelt.

Von verschiedenen Autoren war festgestellt worden, daß Phlorizin nur in niedrigen Glucosekonzentrationen die Glucoseresorption aus dem Dünndarm hemmt (15, 16, 17). Bei höheren Konzentrationen hat das Phlorizin wenig Einfluß auf die Glucoseresorption. Das gleiche gilt für die Phlorizin-Wirkung auf die Xyloeresorption; kürzlich hat Friedrich (18) darüber Untersuchungen angestellt und herausgefunden, daß Phlorizin die Xyloeresorption nur in jenem Bereich hemmt, in dem ein aktiver Transport der Xylose angenommen werden kann. Dieser aktive Transport ist bei etwa 0,25 - 0,5% Xylose im Darmlumen voll gesättigt und bei höheren Konzentrationen ist das Phlorizin dann wirkungslos. Erdlenbruch (6) hat in seinen Untersuchungen nachweisen können, daß Dinitrophenol keinen Einfluß auf die Glucoseresorption ausübt. Erdlenbruch ging mit der Konzentration des Dinitrophenols so hoch, daß die Tiere verstarben, aber selbst knapp unterhalb dieser Dosis konnte keine Wirkung auf den aktiven Glucosetransport festgestellt werden. Demgegenüber fand der gleiche Autor bei der Verwendung von Monojodessigsäure eine deutliche Hemmung der Glucoseresorption aus dem Dünndarmlumen. Allerdings sieht die Kurve für die Resorptionshemmung etwas anders aus als die, welche wir hier für die Glucoseresorption unter Phlorizineinfluß finden konnten. Eine gewisse Ähnlichkeit besteht mit der Kurve, die mit NaCl-Zusatz erhalten wird. Aber auch hierbei ist als deutlicher Unterschied zu erkennen, daß Monojodessigsäure die Glucoseresorption bei 5% Glucose praktisch nicht mehr hemmt, und nur bei 0,1 % und 0,5% und 1% eine wesentliche Hemmung der Glucoseresorption hervorruft. Ein ähnliches Bild wie durch Monojodessigsäure erhält man durch Cetrimide. Cetrimide ist eine quaternäre Ammoniumbase des Trimethyl-N-decyl-Ammoniumbromid (19). Diese Substanz beeinflußt ebenso wie Monojodessigsäure die Glucoseresorption nur in den niedrigen Glucosekonzentrationen und ist bei höheren Glucosekonzentrationen wirkungslos. Eine vollständige Hemmung der Glucoseresorption läßt sich weder mit Cetrimide noch mit Monojodessigsäure erhalten. Bei Untersuchungen, bei denen

NaCl zugesetzt worden war zu Cetrimide, ließen sich keine Unterschiede zwischen Cetrimide mit NaCl und Cetrimide ohne NaCl finden.

Vergleicht man also die Wirkung von Phlorizin auf die Glucoseresorption mit der Wirkung von anderen Hemmsubstanzen auf die Glucoseresorption, nämlich mit Jodessigsäure und mit Cetrimide, so findet man, daß die Hemmung durch Phlorizin erstens wesentlich stärker ausgeprägt ist und zweitens anscheinend wesentlich spezifischer ist. Nur mit Phlorizin konnten die Differenzen mit zusätzlichem Kochsalz erhalten werden, bei Cetrimide waren solche Differenzen nicht zu finden. Als weiteres Merkmal der Phlorizin-Wirkung auf die Glucoseresorption soll noch erwähnt werden, daß Phlorizin keinerlei Einfluß auf den Aminosäuretransport hat, jedoch eine Steigerung der Fettresorption, beziehungsweise der Fettsäureresorption, bewirkt, wie kürzlich Pröle (20) mitgeteilt hat.

Analysieren wir die Ergebnisse der Phlorizininhemmung näher, so finden wir heraus, daß die Glucoseresorption offensichtlich aus zwei verschiedenen Prozessen besteht, nämlich einmal aus dem aktiven Transportvorgang, der etwa bei 1 % - 1,5 % Glucose gesättigt ist. Dieser Vorgang überlagert sich einem passiven Vorgang, der nicht zu sättigen ist und der eventuell bei niedrigen Glucosekonzentrationen noch nicht vorhanden ist. Das würde jedenfalls aus den Ergebnissen mit Glucoselösungen verschiedener Konzentration zu folgern sein. Nur dieser aktive Vorgang wird durch Phlorizin gehemmt, während der passive Vorgang nicht beeinflusst wird. Die Unterschiede zu den anderen Glucoseresorptionshemmern sind schwer zu erklären. Wir möchten annehmen, daß es sich eben einfach darum handelt, daß die anderen Hemmsubstanzen wesentlich unspezifischer sind. Durch die Unspezifität werden auch noch andere Vorgänge im Zellinnern geschädigt und die Folge davon ist dann ein etwas anderes Wirkungsspektrum der entsprechenden Hemmsubstanz. Aber allen Hemmsubstanzen ist gemeinsam, daß in hohen Glucosekonzentrationen keine Hemmung der Resorption mehr zu beobachten ist, was beweist, daß in diesem Bereich eben ein anderer Vorgang stattfindet als bei niedrigen Glucosekonzentrationen. Diese Ergebnisse würden an sich auch übereinstimmen mit den *in vitro* Ergebnissen.

Sahagian und Quastel (21) fanden, daß der Glucosetransport im Dünndarm des Meerschweinchens bereits bei 1 % Glucose gesättigt ist. Es ist dies eine ähnliche Konzentration wie die, bei der wir keine weitere Zunahme der Phlorizin-Wirkung mehr gefunden haben. Andererseits scheinen aber auch andere Vorgänge durch die Hemmungssubstanzen beeinflusst zu werden. Förster, Kaiser und Mehnert haben kürzlich darüber berichtet, daß Glucose aus dem Blut in den Darm übertritt, wenn im Blut eine höhere Glucosekonzentration erreicht wird. Die Glucoseausscheidung in das Darmlumen läßt sich durch osmotisch aktive Substanzen im Darmlumen hemmen. Förster untersuchte nun den Einfluß von Cetrimide und von Phlorizin auf die Glucoseausscheidung in das Darmlumen (23). Er fand dabei, daß die Glucoseausscheidung durch Phlorizin etwas vermehrt wird und daß die Hemmwirkung, die eine osmotisch aktive Substanz im Darmlumen ausübt, etwas vermindert wird.

Cetrimide dagegen steigerte die Glucoseausscheidung in das Darmlumen ganz erheblich und führte auch zu einer weitgehenden Aufhebung der Wirkung von osmotisch aktiven Substanzen. Aus Tabelle 1 läßt sich außerdem ablesen, daß die Wasserresorption durch Phlorizin nur ganz wenig verändert wird. Wasser wird nach neueren Ansichten wahrscheinlich passiv resorbiert. Durch Phlorizin wird dieser Vorgang nicht beeinflusst.

V. ZUSAMMENFASSUNG

An Ratten wurde die Wirkung von Phlorizin auf die Glucoseresorption untersucht. Phlorizin wurde in den Konzentrationen 2×10^{-3} und 2×10^{-4} M den Lösungen zugesetzt. Zusätzlich wurde bei einem Teil der Tiere noch NaCl dem Perfusionsmedium beigesetzt. Es zeigte sich, daß Phlorizin die Glucoseresorption bei allen Glucosekonzentrationen hemmt. Allerdings ist die Hemmwirkung bei niedrigen Glucosekonzentrationen wesentlich höher als bei hohen Glucosekonzentrationen. Sie beträgt z. B. bei 0,1% Glucose und 2×10^{-3} M Phlorizin fast 100 %, während die gleiche Phlorizinkonzentration die Glucoseresorption bei 5% Glucose nur um 45% hemmt. Zusatz von NaCl verhindert zum Teil die hemmende Wirkung von Phlorizin auf die Glucoseresorption. Diese Schutzwirkung des NaCl besteht aber nur bei niedrigen Glucosekonzentrationen, nämlich bei Glucosekonzentrationen bis 2,5%. Diese Ergebnisse sind beweisend dafür, daß die Glucoseresorption aus dem Dünndarm der Ratte aus zwei verschiedenen Vorgängen besteht, nämlich einmal aus einer passiven Diffusion, die nicht hemmbar ist und die nicht zu sättigen ist und zum zweiten überlagert sich über diesen passiven Vorgang ein aktiver Vorgang, der durch Phlorizin hemmbar ist. Andere Resorptionshemmer, nämlich z. B. Cetrimide und Monojodessigsäure bewirken nur eine Hemmung eines gewissen Teils des aktiven Vorgangs. Eine Hemmung der passiven Glucoseresorption läßt sich durch keine uns bekannte Substanz erzielen. Die vorliegenden Ergebnisse werden mit dem Schrifttum diskutiert.

Herrn Priv. -Doz. Dr. H. MEHNERT danke ich für die Überlassung des Themas und für sein stetiges Interesse am Fortgang der Arbeit.

Außerdem bin ich Herrn Dr. H. FÖRSTER zu Dank verpflichtet für seine Hilfsbereitschaft und seine Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen.

Herrn Prof. Dr. W. SEITZ danke ich dafür, daß ich in seiner Klinik arbeiten durfte.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. WESTENBRINK, H. G. K. : Über die Spezifität der Resorption einiger Monosen aus dem Darne der Ratten und der Taube.
Arch. neerl. Physiol. 21(1936)
2. MILLER, D. and CRANE, R. K. : The digestive function of the epithelium of the small intestine.
Biochim. Biophys. Acta, 52, 281 (1961)
3. NISSIM, J. A. : Mechanism of intestinal Absorption: the concept of a spektrum of intracellular plasma.
Nat. 204, 148 (1964)
4. MEHNERT, H. u. FÖRSTER, H. : Die Prüfung der Resorption von Glucose, Fructose und Sorbit mit einer neuen Methodik.
Klin. Wschr. 39, 596 (1960)
5. FÖRSTER, H. u. MEHNERT, H. : Resorptionsprüfungen und Sekretionsprüfungen bei Perfusion des Rattendarmes mit hypo- und hypertonen Glucoselösungen.
Klin. Wschr. 41, 1167, (1963)
6. ERDLLENBRUCH, W. : Inauguraldissertation, München 1966
7. SCHUBERT, R. u. WAGNER, H. : Normalausscheidung von Periston N bei Anwendung eines neuen Kollidonnachweises.
Z. ges. exp. Med. 131, 90 (1959)
8. KEILIN, D. and HARTREE, E. F. : Properties of catalase. Catalysis of compled oxidation of alkohol.
Biochem. J. 39, 293 (1945)
9. HUGGET, A. and NIXON, D. A. : Enzymic determination of blood-glucose.
Biochem. J. 66, 12 (1957)
10. PONZ, F. and BALASCH, J. : The effect of various metabolics and sugar transport inhibitors on the oxygen uptake of the intestinal mucosa.
R. esp. Fisiol. 20, 69 (1964)

11. LESLY JERRIS, E. ,
JOHNSON, F. R. ,
SHEFF, M. F. , SMYTH, D. H. : The effect of Phlorizin on intestinal
absorption and intestinal Phosphatase.
J. Physiol. 134, 675 (1956)
12. KELLER, D. M.
and LOTSPEICH, W. D. : Some effects of Phlorizin on the metabolism
of Mitochondria.
13. ALVARADO, F. and
CRANE, R. K. : Studies of the mechanism of intestinal
absorption of sugars.
Biochim. Biophys. Acta 93, 116 (1964)
14. ALVARADO, F. and
CRANE, R. K. : Phlorizin as a competitive inhibitor of the
active transport of sugars by hamster small
intestine, in vitro.
Biochim. Biophys. Acta, 56, 170 (1962)
15. HART, S. L. and
NISSIM, J. A. : First receptor in intestinal sugar transport:
The effect of Phlorizin and of Cetrimide
on the intestinal absorption of 2-D-Xylose.
Nat. 204, 51 (1964)
16. DETHERIDGE, J. F. ,
MATTHEWS, J. and
SMYTH, D. H. : The effect of inhibitors on intestinal transfer
of glucose and fluid.
J. Physiol. 183, 369 (1966)
17. MANOME, Sh. and
KURIAKI, K. Effect of Insulin, Phlorizin and some meta-
bolic inhibitors on the glucose absorption
from the intestine.
Arch. int. pharmacodyn. 130, 187 (1961)
18. FRIEDRICH, G. Inauguraldissertation (in Vorbereitung)
19. TAYLOR, C. B. : The effect of Cetyltrimethylammonium
Bromide and some related compounds on trans-
port and metabolism in the intestine of the
rat in vitro.
J. Physiol. 165, 199 (1963)
20. PRÖLS, H. G. : Inauguraldissertation, München 1966
21. SAHAGIAN, B. M. : Active glucose uptake by strips of guinea pig
intestine;
competitive inhibition by Phlorizin and Phlo-
retin.
Can. J. Biochem. 43 (1965)
22. FÖRSTER, H. , KAISER, W.
und MEHNERT, H. Experimentelle Untersuchungen
zur aktiven Resorption von Zuckern am

Forts. zu 22. :

lebenden Tier.

II. Mitteilung: Prüfung der Glucose-resorption gegen einen erhöhten Blutglucosespiegel.

Klin. Wschr. 43, 839 (1965)

23. FÖRSTER, H. :

Zur Wirkung von Phlorizin auf die Glucose-resorption und Glucoseausscheidung im Rattendünndarm in vivo.

Vortrag Ges. f. Physiol. Chemie 1966

LEBENS LAUF

Ich, Peter S e l g r a d, wurde am 18. Februar 1939 als erstes Kind des praktischen Arztes Dr. med. Julius Selgrad und seiner Ehefrau Gerda, geb. Netzer, in Amberg geboren.

Von 1945 bis 1949 besuchte ich die Volksschule in Schwarzhofen und anschließend die Humanistischen Gymnasien in Amberg, Metten, Tegernsee und Neuburg an der Donau, wo ich 1959 mein Abitur bestand. Darauf immatrikulierte ich mich zu Beginn des Wintersemesters 1959/60 an der Universität München für das Studium der Medizin. Nach dem Wintersemester 1960/61 bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung und nach dem Wintersemester 1962/63 die ärztliche Vorprüfung.

Am 15. Juni 1966 schloß ich das Studium der Medizin mit dem Staatsexamen ab.



